

D16

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2002 年 3 月 14 日 (14.03.2002)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 02/20200 A1

- (51) 国際特許分類: B22F 9/00 Yukio) [JP/JP]; 〒302-0128 茨城県北相馬郡守谷町
けやき台 3-5-17 Ibaraki (JP). 大塚英典 (OTSUKA,
(21) 国際出願番号: PCT/JP01/01039 Hidenori) [JP/JP]; 〒211-0034 神奈川県川崎市中原
区井田中ノ町 11-13 Kanagawa (JP). 石井武彦 (ISHII,
(22) 国際出願日: 2001 年 2 月 14 日 (14.02.2001) Takehiko) [JP/JP]; 〒340-0211 埼玉県北葛飾郡鷺宮町
上内 1221-1 Saitama (JP).
- (25) 国際出願の言語: 日本語 (74) 代理人: 弁理士 宮本晴恵 (MIYAMOTO, Harumi); 〒
105-0001 東京都港区虎ノ門一丁目 19 番 14 号 邦楽ビ
(26) 国際公開の言語: 日本語 ル 7 階 Tokyo (JP).
- (30) 優先権データ: 特願 2000-273131 2000 年 9 月 8 日 (08.09.2000) JP (81) 指定国 (国内): US.
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 科学技術 振興事業団 (JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION) [JP/JP]; 〒332-0012 埼玉県川口市本 町 4 丁目 1 番 8 号 Saitama (JP). (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).
- (72) 発明者; および 添付公開書類:
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 片岡一則 ー 国際調査報告書
(KATAOKA, Kazunori) [JP/JP]; 〒165-0031 東京都中 野区上鷺宮 5-17-22 Tokyo (JP). 長崎幸夫 (NAGASAKI, 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される 各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語 のガイダンスノート」を参照。



WO 02/20200 A1

(54) Title: FINELY PARTICULATE FUNCTIONAL METAL AND FINELY PARTICULATE FUNCTIONAL SEMICONDUCTOR EACH WITH DISPERSION STABILITY AND PROCESS FOR PRODUCING THE SAME

(54) 発明の名称: 分散安定化機能性金属微粒子及び半導体微粒子およびその製造法

(57) Abstract: A stable dispersion of fine metal particles which is obtained by reducing with a reducing agent a haloauric acid, a haloplatinic acid, silver nitrate, and a halorhodic acid in an aqueous solution of (1) R-PEG-SX [wherein R is acetal, aldehyde, hydroxy, amino, carboxyl, active ester, azido, biotin, monosaccharide, oligosaccharide, amino acid, nucleic acid, allyl, vinylbenzyl, methacryloxy, and acryloxy groups; PEG is (CH₂CH₂O)_n; and X is hydrogen or pyridylthio] or (2) R-PEG/PAMA (given structural formula (A)) to thereby form metal particles having deposited on the surface thereof a polymer having PEG units having the functional groups.

[続葉有]



(57) 要約:

(1) R-PEG-SX〔Rは、アセタール、アルデヒド、水酸基、アミノ基、カルボキシル基、活性エステル基、アジド基、ビオチン基、単糖、オリコ糖、アミノ酸、核酸、アリル基、ビニルベンジル基、メタクリロイル基およびアクリロイル基、

PEGは $-(CH_2CH_2O)_n$ 、XはHまたはピリジルチオ基〕

又は(2) R-PEG/PAMA(所定構造式A)

の水溶液中でハロゲン化金酸、ハロゲン化白金酸、硝酸銀およびハロゲン化ロジウム酸を、還元剤で還元し、金属表面に該官能基を有するPEG単位を持つポリマーを担持した安定金属微粒子分散体、又はその製造方法。

明 細 書

分散安定化機能性金属微粒子及び半導体微粒子およびその製造法

技術分野

本発明は、金属あるいは半導体単分散微粒子（コロイド粒子）の表面に請求の範囲 1 に記載の構造式の官能基を有する P E G 単位を持つ化合物、請求の範囲 3 に記載の官能基を有する P E G 単位を持つ構造式 A、または請求の範囲 5 に記載の官能基を有する P E G 単位を持つ構造式 B のポリマーを、該微粒子の生成工程中に該 P E G 単位を持つ化合物、P E G 単位を持つ構造式 A または構造式 B のポリマーを存在させ、該微粒子表面に導入して得られた該微粒子（コロイド粒子）表面に前記 P E G 鎖または P E G 単位を持ち、前記 P E G 鎖、または前記 P E G 単位を持つ化合物ならびに P E G 単位を持つ構造式 A または構造式 B 持つポリマー、の自由末端に高機能の前記官能基を持った安定金属微粒子分散体および該高機能の安定金属微粒子分散体の製造法に関する。

背景技術

従来、金属或いは半導体コロイド（超微粒子）は、医療〔医薬（超微粒子の細内網系への浸透性の医薬）として、各種検査薬、D D S として〕、染料（塗料）、食品や触媒など、様々な分野で広く応用されている重要な工業材料の一つである。

特に数十から数百ナノメートルサイズ（サブミクロン：メソサイズ等とも呼ばれている。）で、かつサイズのそろった金属粒子はラマンスペクトル、マイクロ波を利用した医療用診断剤や電子顕微鏡ラベル剤などの高機能材料として期待されている。

例えば、金属コロイド粒子を使用するアッセイ方法が開発されている。該方法は、金属コロイドを標識として利用するために標識すべき特異の結合部分を、吸着により金属コロイド上に結合させ、前記標識物質を検出、測定するものである（特開平6-116602、以下、文献Aという。）。

その原理は、超微粒子は共鳴ラマン散乱を表面増感効果により増大させることが知られようになり〔表面－強化ラマン光散乱（Surface Enhanced Raman Scattering）、表面強化共鳴ラマン散乱（SERRS：Surface Enhanced Resonance Raman Scattering）〕、また、金属コロイドが前記シグナル増感効果を示すことが発見されたことにより、該金属コロイドの特性を利用するものである。

このようにラマン光に対しての前記効果を持つ金属コロイドなどを標識試薬として用いれば、該金属コロイドと反応する種々の被検出物、例えば抗体またはリガンドを前記効果を利用して検出することができる。また、前記被検物に特異的結合部位およびラマン増感物質（金属コロイドなど）を有する物質、換言すれば媒介分子（intervening molecule）で前記予めラマン増感物質（金属コロイドなど）を処理しておけば、該介在分子で処理したものは、被検物と結合する能力を有するから、該被検物に対する標識物質となり、被検物質と該標識物質を結合させた後ラマン光を用いて被検物を感度良く検出することができる。

ただ、従来のこのような金属微粒子は表面のイオンの反発力によって水のような媒体中で分散状態が維持されているだけであるから、反対電荷を持ったものが存在すると中和して凝集してしまう等、極めて不安定であるという欠点があった。

これに対して、前記文献Aでは、金のゾルをアルカンチオール又はチオール誘導体でコーティング（保護、修飾とも言われる。）し、塩や酸により容易に凝集を生じない安定なゾルとする技術が開示されている。しかし、その製造方法は比較的複雑であり、かつ、得られるゾルも単分散粒子、すなわち粒度分布がせまい粒径がそろったものとは言い難く、更に比較的大きな粒径のものしか得られないので、検出試薬として用いた場合性能の面で改善の余地があった。

前記問題点を解決すると共に、更に種々の改善された特性を持つ金蔵分散微粒子を得るた目的で、ポリエチレングリコール（PEGと記載する場合もある。）のような水溶性の構造を持ち、しかもモビリティの高く、かつポリマーの一方の末端に金属微粒子親和性の官能基を持つポリマーを担持させ（該ポリマー末端あるいはアミノ基と金属微粒子表面との相互作用により担持するものである。）該担持したPEGの反発力に基づいて金属微粒子の分散安定性を改善させる方法が報告されている〔たとえばW.PWuelfingら、J. Am. Chem. Soc. 120 (48), 12696-12697 (1998)〕。

しかしながら、たとえば前記診断用金属微粒子を考えると、PEG構造を持つポリマーを微粒子金属表面に担持させると、分散安定性は向上するものの、抗体等の持つ基（反応特異性の基、被検物が有する基と反応する基）との反応基が無いために、その利用は極めて限られたものとならざるを得なかった。

前記種々の問題点を解決するため、本発明者らは P E G の片末端（例えば、 α -末端）に金属、金属酸化物或いは半導体超微粒子表面に担持しうる官能基（例えばメルカプト基、ポリアミン基）を導入し、他末端（ ω -末端）に抗体、タンパク質、染料など機能性化合物等と反応しうる官能基を導入した P E G 誘導体を合成し、金属、金属酸化物または半導体超微粒子に前記官能基を導入した P E G 誘導体を担持させて、該超微粒子の分散安定性を改善すると共に、超微粒子表面から広がった（外側に伸びる）P E G 鎖の他末端に機能性化合物等への反応性を持つ官能基を有する（修飾する）新しい分散安定複合体とすることを提案している（第 48 回（1999 年）高分子討論会 10 月 6 日～8 日、新潟大学五十嵐キャンパス「高分子学会予稿集」Vol. 48, No. 14, 4113-4114, 平成 11 年 9 月 20 日発行、参照）。

しかしながら、ここでは塩化金酸等と還元剤としての水素化ホウ素ナトリウム（ NaBH_4 ）とからコロイド粒子の分散体を製造する際に前記 P E G 構造を持つポリマー誘導体（ポリマー修飾剤とも言われる。）を存在させることについては検討されいない。また、これまでの技術で得られる金ゾル粒子などは単分散コロイド粒子とは程遠いものであり、かつ、分散安定性の観点からも満足すべきものではなかった。

さらには、同 P E G 構造を持つポリマー誘導体存在下において半導体微粒子を調製することもこれまで行われた例はない。

本発明の課題は、前記従来技術の欠点を改善するものであり、金、白金、銀、ロジウムなどの金属あるいは C d S、Z n S、C d S e、Z n S e または I n A s などの半導体の分散安定性が改善さ

れた単分散微粒子（コロイド粒子、ナノ粒子）、すなわち粒径が揃った微粒子分散体であり、かつ粒径が比較的小さものを得ることである。更に該分散安定性が改善された金などの微粒子（コロイド粒子）分散体は、表層にPEG鎖またはPEG単位を持つ前記ブロックポリマーやグラフトポリマーを有し、該鎖またはポリマーの自由末端には前記官能基を有することにより、該官能基の持つ機能性が付与された安定な微粒子（コロイド粒子）分散体を提供するとともに該分散体を得る方法を提供することである。

本発明者らは、前記課題を解決すべく、金属微粒子（コロイド粒子）分散体を再現性良く、かつ、安定的に生成する反応系について種々検討する中で、前記PEG単位を持つ特定の化合物（ポリマー）の存在下で、塩化金酸などを還元することにより金属微粒子を生成させたり、半導体微粒子を合成することによって、分散安定性が改善された、単分散微粒子（コロイド粒子）が得られることを発見し、前記課題を解決した。

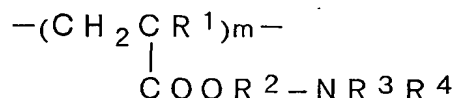
また、更に、市販の金などの微粒子（コロイド粒子）分散溶媒に、前記PEG単位を持つブロック、またはグラフトポリマーを加えることにより、分散安定性が顕著に改善された該微粒子（コロイド粒子）の分散体を得られること、および該ブロック、またはグラフトポリマーを使用すると、金属酸と該ブロック、またはグラフトポリマーを混合するだけで（別に還元剤を添加する必要が無く）、粒径が揃い、かつ極めて粒径の小さい、換言すれば量子効果を示す粒径（ナノサイズ）の単分散金属微粒子（コロイド粒子）を得ることができることを発見した。

発明の開示

本発明の第1は、 $R-PEG-SX$ 〔Rは、アセタール、アルデヒド、水酸基、アミノ基、カルボキシル基、活性エステル基、アジド基、ビオチン基、単糖、オリゴ糖、アミノ酸、核酸、アリル基、ビニルベンジル基、メタクリロイル基およびアクリロイル基からなる群から選択される官能基、PEGは $-(CH_2CH_2O)_n-$ （nは2～10, 000の任意の整数）、XはHまたはピリジルチオ基〕の水溶液中でハロゲン化金酸、ハロゲン化白金酸、硝酸銀及びハロゲン化ロジウム酸からなる群から選択される少なくとも1種の金属酸またはその塩を還元剤により還元することにより得られた該金属から生成する微粒子表面に該官能基を有する散体である。PEG単位を持つ化合物（ポリマーを含む、以下同じ）を担持した安定金属微粒子分

本発明の第2は、 $R-PEG-SX$ 〔Rは、アセタール、アルデヒド、水酸基、アミノ基、カルボキシル基、活性エステルアジド基、ビオチン基、単糖、オリゴ糖、アミノ酸、核酸、アリル基、ビニルベンジル基、メタクリロイル基およびアクリロイル基からなる群から選択される官能基、PEGは $-(CH_2CH_2O)_n-$ （nは2～10, 000の任意の整数）、XはHまたはピリジルチオ基〕の水溶液中でハロゲン化金酸、ハロゲン化白金酸、硝酸銀及びハロゲン化ロジウム酸からなる群から選択される少なくとも1種の金属酸またはその塩を還元剤により還元することにより得られた該金属からの微粒子表面に該官能基を有する前記PEG単位を持つ化合物を担持した安定金属微粒子分散体の製造方法である。

本発明の第3は、R-PEG/PAMA〔Rは、アセタール、アルデヒド、水酸基、アミノ基、カルボキシ基、活性エステルアジド基、ビオチン基、単糖、オリゴ糖、アミノ酸、核酸、アリル基、ビニルベンジル基、メタクリロイル基およびアクリロイル基からなる群から選択される官能基、PEGは $-(CH_2CH_2O)_n-$ （nは2～10,000の任意の整数）、PAMAは下記構造式Aで表されるアミノ基を有するアクリル酸またはメタクリル酸エステルのポリマー〕で表されるブロックポリマー溶液中でハロゲン化金酸、ハロゲン化白金酸、硝酸銀及びハロゲン化ロジウム酸からなる群から選択される少なくとも1種の金属酸またはその塩を還元することにより得られた該金属からの微粒子表面に該官能基を有する該ブロックポリマー鎖を担持した安定金属微粒子分散体



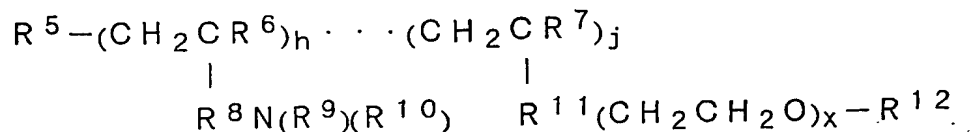
構造式A

〔mは重合度であり2～10000である。R¹はHまたはメチル基、R²は炭素数1～10のアルキレン基、R³およびR⁴は炭素数1～5のアルキル基を示す。〕である。

本発明の第4は、R-PEG/PAMA〔Rは、アセタール、アルデヒド、水酸基、アミノ基、カルボキシ基、活性エステル基、アジド基、ビオチン基、単糖、オリゴ糖、アミノ酸、核酸、アリル基、ビニルベンジル基、メタクリロイル基およびアクリロイル基からなる群から選択される官能基、PEGは $-(CH_2CH_2O)_n-$ （nは2～10,000の任意の整数）、PAMAは前記構造式A

で表されるアミノ基を有するポリマー] で表されるブロックポリマー溶液中でハロゲン化金酸、ハロゲン化白金酸、硝酸銀及びハロゲン化ロジウム酸からなる群から選択される少なくとも1種の金属酸またはその塩を還元することにより得られた該金属から生成する金属微粒子表面に該官能基を有する該ブロックポリマーを担持した安定金属微粒子分散体の製造方法である。

本発明の第5は、下記の構造式B〔式中 R^{12} は、アセタール、アルデヒド、水酸基、アミノ基、カルボキシル基、活性エステル基、アジド基、ビオチン基、単糖、オリゴ糖、アミノ酸、核酸、アリル基、ビニルベンジル基、メタクリロイル基およびアクリロイル基からなる群から選択される官能基、 R^6 、 R^7 、 R^9 、 R^{10} は水素または炭素数1～5の低級アルキル基、 R^8 および R^{11} は、 $-COO(CH_2)_y-$ (y は1～10の整数)、 $-C_6H_4(CH_2)_z-$ (y は1～10の整数)、 $-CONH(CH_2)_w-$ (w は1～10の整数)からそれぞれ独立に選択される結合基、 X は重合度を表し、2～100である。 R^5 は合成時に生成する開始剤断片などである。〕で表されるグラフトポリマー溶液中でハロゲン化金酸、ハロゲン化白金酸、硝酸銀及びハロゲン化ロジウム酸からなる群から選択される少なくとも1種の金属酸またはその塩を還元することにより得られた該金属からの微粒子表面に該官能基を有する該ブロックポリマー鎖を担持した安定金属微粒子分散体。



構造式B

本発明の第6は、前記の構造式B〔式中 R^{12} は、アセタール、アルデヒド、水酸基、アミノ基、カルボキシ基、活性エステル基、アジド基、ビオチン基、単糖、オリゴ糖、アミノ酸、核酸、アリル基、ビニルベンジル基、メタクリロイル基およびアクリロイル基からなる群から選択される官能基、 R^6 、 R^7 、 R^9 、 R^{10} は水素または炭素数1～5の低級アルキル基、 R^8 および R^{11} は、 $-COO(CH_2)_y-$ （ y は1～10の整数）、 $-C_6H_4(CH_2)_z-$ （ y は1～10の整数）、 $-CONH(CH_2)_w-$ （ w は1～10の整数）からそれぞれ独立に選択される結合基、 X は重合度を表し、2～100である。〕で表されるグラフトポリマー溶液中でハロゲン化金属酸、ハロゲン化白金酸、硝酸銀及びハロゲン化ロジウム酸からなる群から選択される少なくとも1種の金属酸またはその塩を還元することにより該金属からの微粒子表面に該官能基を有する該グラフトポリマー鎖を担持した安定金属微粒子分散体の製造方法である。

前記第1、3および5の発明において、ハロゲン化金属酸またはその塩は、好ましくは塩化金酸、塩化白金酸、塩化ロジウム酸またはその塩であることを特徴とする安定金属微粒子分散体、また、前記第2、4および6の発明においてハロゲン化金属酸またはその塩は、好ましくは塩化金酸、塩化白金酸、塩化ロジウム酸またはその塩であることを特徴とする前記安定金属微粒子分散体の製造方法である。

本発明の第7および8は、 $R-PEG-SX$ 〔 R はSH以外の官能基、 PEG は $-(CH_2CH_2)_n-$ （ n は2～10, 000の任意の整数）、 X はHまたはピリジルチオ基〕、

10

R-PEG/PAMA〔Rは、アセタール、アルデヒド、水酸基、アミノ基、カルボキシ基、活性エステル基、アジド基、ビオチン基、単糖、オリゴ糖、アミノ酸、核酸、アリル基、ビニルベンジル基、メタクリロイル基およびアクリロイル基からなる群から選択される官能基、PEGは $-(CH_2CH_2O)_n-$ （nは2～10,000の任意の整数）、PAMAは前記構造式Aで表されるアミノ基を有するアクリル酸またはメタクリル酸エステルのポリマー〕で表されるブロックポリマー、または前記構造式Bで表されるグラフトポリマー溶液中で、 MeX_2 （MeはCdまたはZn、Xはハロゲン）で表される少なくとも1種の化合物と Na_2S とを、Se、Cd $(CH_3)_2$ 、およびトリブチルホスフィンとをトリオクチルホスフィンオキサイドの存在下で加熱して、または $(CH_3)_3SiAs$ 、 $InCl_3$ およびトリオクチルホスフィンとを加熱下で、反応させることにより得られたMeS、CdSe、またはInAsからなる半導体微粒子面に該官能基を有するPEG鎖または該官能基を有する前記各ポリマーを担持させた安定半導体微粒子分散体および前記反応により前記安定半導体微粒子分散体を製造する方法である。前記7および8の発明において微粒子半導体は、好ましくはCdS、CdSe、ZnS、ZnSeまたはInAsである。

図面の簡単な説明

第1図は、PEG（a、数平均分子量 $M_n=5700$ 、分子量分布 $M_w/M_n=1.08$ ）およびアセタール-PEG-ポリメタクリル酸ジメチルアミノエチル（PAMA）ブロック共重合体（b、M

1 1

$n = 21600$ 、 $M_w / M_n = 1.23$ の G P C (ゲルパーミエーションクロマトグラフ) である。

第 2 図は、アセタールー P E G - ポリメタクリル酸ジメチルアミノエチル (P A M A) ブロック共重合体の N M R スペクトルである。

第 3 図は、塩化金酸 ($H A u C l_4 : A u$) をアセタールー P E G - S H (P E G S H : P E G) 及び還元剤 $N a B H_4$ で還元して分散安定金コロイド粒子 (微粒子) 分散体の調製過程を示す (a^1 は $A u : P E G = 1 : 1 / 6$ の還元前、 a^2 は還元後。 b^1 は $A u : P E G = 1 : 3$ の還元前、 b^2 は還元後。 c^1 は $A u : P E G = 1 : 1$ の還元前、 c^2 は還元後。) 。

第 4 図は、第 1 図で得られ金微粒子分散体のイオン強度 0 . 1 5 M リン酸緩衝溶液 (p H = 6.8) での安定性を示す。

第 5 図は、塩化金酸のアセタールー P E G / P A M A ブロック共重合体での還元による金コロイド粒子 (微粒子) 分散体の生成過程を示す (a は開始時、 b は 1 5 分後、 c は 3 0 分後、 d は 4 5 分後、 e は 1 時間後、 f は 2 時間後、 g は 2 4 時間後) 。

第 6 図は、塩化金酸をアセタールー P E G / P A M A ブロック共重合体により還元して得られる金コロイド粒子 (微粒子) の粒径分布を示す (平均粒径 $d = 1 8 . 6$ である。) 。

第 7 図は、塩化金酸をアセタールー P E G / P A M A ブロック共重合体により還元して得られる金コロイド粒子 (微粒子) の透過型電子顕微鏡像 (写真) である。

第 8 図は、 (a) アセタールー P E G / P A M A ブロック共重合体による市販の金コロイド粒子 (微粒子) 分散体の酸性条件にお

1 2

ける安定化の効果、(b) PEGホモポリマーの場合の金コロイドの酸性条件における分散安定性を示す。

第9図は、アセタールーPEG/PAMAブロック共重合体の存在下において形成されたCdS微粒子からなるCdS量子ドットの蛍光スペクトル(励起波長300nm)である。

第10図は、構造式Bにおいて、 R^5 は重合開始剤断片などにより形成される基であり、 R^6 、 R^7 、 R^9 および R^{10} がメチル基、 R^8 が $-(CH_2)_2-$ 、 h が500であり、 j が3~4であり、 R^{11} が $-C_6H_4-(CH_2)_2-$ であり、 R^{12} がカルボキシル基であり、分子量が64,000のグラフトポリマー(N)を溶解させた溶液を用いて、 $HAuCl_4$ (Au)を還元することにより調製した金ナノ粒子の光吸収特性を示す〔aは、AuとNとの比が1/8の場合、bは1/16、cは1/32、dは1/64およびeは1/128の場合をそれぞれ表す。〕

第11図は、RCA120レクチンによる凝集特性を吸光度により観察した結果(マンノースOを対比試料)を示す〔3時間(■)、8時間(●)、24時間(▲)後をそれぞれ表す。〕。

発明を実施するための最良の形態

本発明をより詳細に説明すると。

A. 本発明で使用する官能基-PEG-SX、特にアセタールーPEG-SXの-PEG-S-は、当該分野において公知のものであり(特開平11-322917号公報、特開平7-48449号公報)、これら開示されているものなどから適宜選択して用いることができる。前記PEGの分子量には上限がないが、通常分子量

1 3

100以上のものが使われる。好ましくは分子量200～100000、より好ましい分子量は300～20000程度である。

また、アセタール以外の官能基としては、アルデヒド、水酸基、アミノ基、カルボキシル基、活性エステル基、アジド基、ビオチン基、単糖や2糖などのオリゴ糖、アミノ酸、核酸、アリル基、ビニルベンジル基、メタクリロイル基、アクリロイル基などを挙げることができ、これらの基はPEG合成時あるいは合成後に適宜な手段により導入することができる。

本発明の特徴は、前記PEG単位を持つ化合物、前記PEG単位を持つブロックポリマーまたはグラフトポリマー化合物を、金属微粒子（コロイド粒子）の製造工程において存在させて塩化金酸（ HAuCl_4 ）等を還元〔前者PEG単位を持つ化合物の場合は、更に還元剤として水素化ホウ素ナトリウム（ NaBH_4 ）を共存させて〕することにより金属微粒子（コロイド粒子）得ること、または、前記PEG単位を持つ化合物、前記PEG単位を持つブロックポリマーまたはグラフトポリマー化合物の存在下に半導体微粒子を合成することによって、分散安定性が改善された半導体微粒子を得ることにある。

因みに、前記文献Aでは、金ゾルの製造において HAuCl_4 三水和物及び水素化ホウ素ナトリウムを使用しているが、本発明の特徴である前記ポリマー化合物と組合せることについて示唆する言もない。

B. 本発明で用いる、アセタールーPEGーポリメタクリル酸ジメチルアミノエチル（PAMA）ブロック共重合体（該共重合体の

1 4

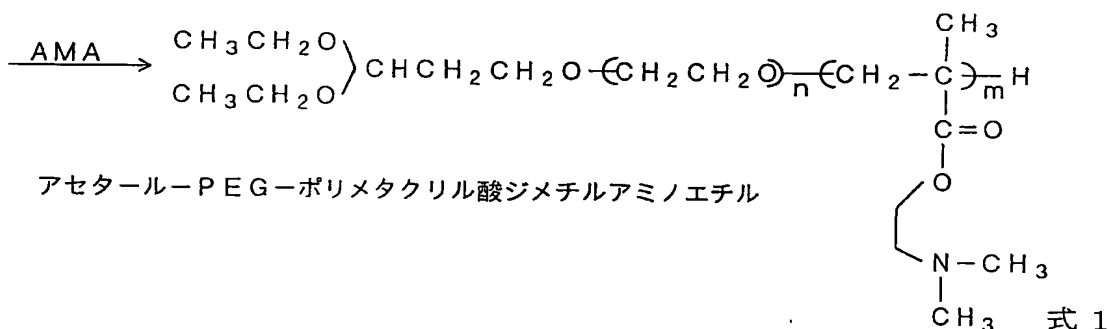
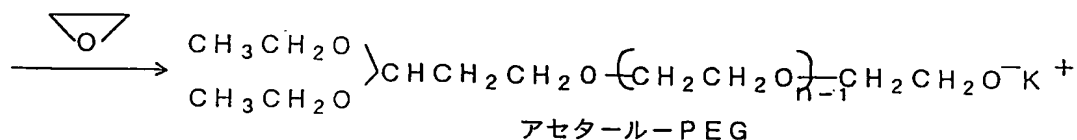
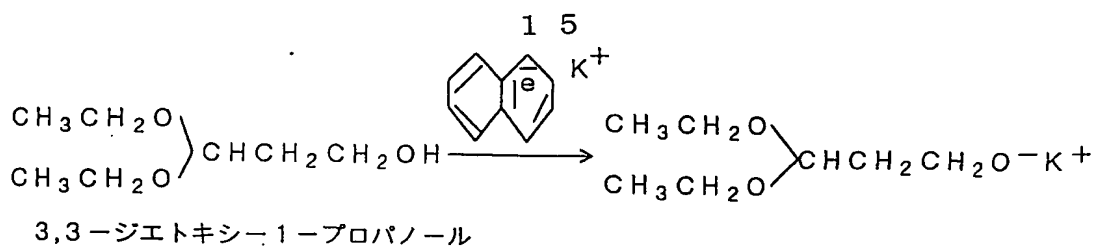
エチル基は、炭素数 1 ~ 10 のアルキレン基から、また、メチル基は炭素数 1 ~ 5 のアルキル基から適宜選択できる。) には、アセタール-PEG-OH [PEG は、 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n$ (n は、2 から 10000 の任意の整数)] にポリメタクリル酸ジメチルアミノエチルを重合度 2 ~ 10000 で重合することによって得られる (メタクリル酸は、アクリル酸を用いても良い)。

合成方法の一例を以下に示す。

アルゴン気流下で反応容器に THF (テトラヒドロフラン) を加える。これに 3, 3-ジエトキシ-1-プロパノール (1 mmol, 0.16 mL) (開始剤) を攪拌しながら滴下する。開始剤と等モル量のナフチル⁻K⁺ THF 溶液を滴下しメタル化を 15 分間行った。その後、エチレンオキサイド (EO) (100 nmol, 5.6 mL) を加え、2 日間水冷下で攪拌して重合を行った。サンプリングして GPC (ゲルパーミエーションクロマトグラフ) により PEG の重合度 (鎖長) を測定し (測定結果は、第 1 図に記載のように、ポリエチレングリコールの平均分子量は 5700 であり、ブロック共重合ポリマーの平均分子量は 21600 である。)、DMAEMA (dimethylaminoethylmethacrylate) (20 mmol, 3.4 mL) を加え室温で攪拌し重合を 20 分間を行い、過剰量の H₂O で反応を停止させた。

次いで、冷 2-プロパノールで再沈殿し、遠心分離 (5000 rpm, 60 分) し、回収したポリマーはベンゼン凍結乾燥した。該ブロック共重合体の NMR スペクトルを第 2 図に示す。

該反応を以下の式 1 に示す。



このブロック共重合体の特徴は、驚くべきことにポリマー自身が塩化金酸（ HAuCl_4 ）等を還元する特性を有することである。従って、該ブロック共重合体を使用すれば、単に HAuCl_4 と攪拌するだけで、通常使用される還元剤なしに該 HAuCl_4 を還元（自動還元という。）して安定な金などの微粒子（コロイド粒子）の分散体を得ることができた。

金属微粒子分散体に種々の機能性を付与するアセタール以外の官能基としては、アルデヒド、水酸基、アミノ基、カルボキシル基、活性エステルアジド基、ビオチン基、単糖や2糖などのオリゴ糖、アミノ酸、核酸、アリル基、ビニルベンジル基、メタクリロイル基、アクリロイル基などを挙げることができ、これらの官能基はPEG合成時あるいはブロック調製後に適宜な手段により導入すること

16

ができる。金ゾルの安定化は、ブロックポリマーの非共有電子対による金コロイドへの配位によるものと推測される。

他の、前記構造式Aで表される化合物も前記ブロックポリマーの製造方法と同様に製造できる。

C. 更に、驚くべきことには、前記アセタールーPEG-ポリメタクリル酸ジメチルアミノエチル(PAMA)ブロック共重合体を、市販の金コロイド粒子分散体に加えることにより(単に攪拌するだけで)、安定な金コロイド粒子分散体を製造することができることが分かった。

D. 前記構造式Bで表されるアミノ基側鎖と、PEG単位を持つ分岐を有するグラフトポリマーは、前記分岐となるPEGマクロモノマーの存在下に、前記アミノ基を持つモノマーを重合することにより、前記分岐を少なくとも1導入することができる。

前記マクロモノマーは、アルカリ金属ナフタレンの存在下にアニオン重合させることにより得られる。

また、前記グラフトモノマーは、前記アミノ基を有するモノマーを、例えばラジカル重合することにより得られる。

E. 構造式Bで表されるポリマーも前記構造式Aもポリマーと同様に、別途還元剤を用いることなく塩化金酸(HAuCl_4)等を還元して分散安定性を有する金などの微粒子(ナノ粒子)を生成させる特性を有する。

F. 前記塩化金酸(HAuCl_4)に代えて、 H_2PtCl_6 、 Na_2PtCl_4 、 RhCl_3 、硝酸銀にも上記微粒子(ナノ粒子)の分散体の製造に適用できる。

17

G. 前記 $R-PEG-SX$ 、 $R-PEG/PAMA$ および構造式 B のポリマーは半導体微粒子（ナノ粒子）の安定化にも有効である。該安定な半導体微粒子（ナノ粒子）は、 $CdCl_2$ や $ZnCl_2$ などの 12 族化合物と Na_2S や Na_2Se などの 16 族化合物とを前記各ポリマー化合物の存在下にて混合して、反応させることにより調製することができる。この方法は 13 族と 15 族の組み合わせでも同様に調製される。このようにして得られる半導体微粒子は、量子効果の特性を持つ。

【実施例】

実施例 1

塩化金酸とアセタール- $PEG-SH$ 及び還元剤 $NaBH_4$ を用いて、分散安定金コロイド粒子（微粒子）分散体の調製。

塩化金酸 ($HAuCl_4$) 0.2 mM に対してアセタール- $PEG-SH$ ($M_n = 3200$) を $HAuCl_4$: アセタール- $PEG-SH$ ($Au : PEG$) = 1 : 3.、1 : 1, 及び 1 : 1 / 6 の比で混合したものについて金コロイド粒子（微粒子）分散体の生成について調べた。

この系に $HAuCl_4$ の約 10 倍の水素化ホウ素ナトリウム ($NaBH_4$) を添加し、10 時間反応させた。反応前後の紫外・可視光 (UV・VL) スペクトルを第 3 図に示す。還元後に 400 ~ 600 nm の吸収が増加し、コロイド粒子が生成したことを示している。アセタール- $PEG-SH$ の量を少なくするに従ってより長波長側の吸収が増加し、粒径が大きくなったことを示している。

イオン強度 0.15 M リン酸緩衝溶液 ($pH = 6.8$) で一日以上にわたって可視光透過率が変化しないことが確認され、高イオン強度において極めて安定な金微粒子が調製が可能であることが確認された (第 4 図)。

実施例 2

塩化金酸とアセタール-PEG/PAMA ブロック共重合体 (それぞれのポリマーの M_n は、5700/15700、構造式 A において n は 130、 m は 100) を用いて、分散安定金コロイド粒子 (微粒子) の調製。

2. 5 mg/mL の塩化金酸 ($HAuCl_4$) (Au) 水溶液 1 mL と、6 mg/mL のアセタール-PEG/PAMA ブロック共重合体 (N) 水溶液 5 mL ($N : Au = 8 : 1$) を混ぜ室温で 24 時間攪拌した。所定時間ごとに UV-VL スペクトルを測定した。第 5 図に示すように金微粒子に由来する 540 nm のピークが次第に上昇し、還元剤を加えない状態で金コロイド粒子 (微粒子) 分散体が生成していることが確認された。この溶液を光散乱により測定 (DLS : 動的光散乱) したところ、第 6 図に示すように平均粒径の単分散コロイド粒子 (平均粒径 $d = 18.6$ nm) が生成していることが確認された。

更に、透過型電子顕微鏡によって、完全に均一な粒子が生成していることが確認された (第 7 図 : 顕微鏡写真)。この溶液を $pH = 2 \sim 10$ の範囲で変化させ、1 日放置しても全くスペクトルに変化は見られず、この系で極めて安定な金コロイド粒子 (微粒子) が得られることが確認された。

更に、この溶液に0.2MまでのNaClを加えてもコロイド粒子は安定に分散していた。

この溶液にブロック共重合体の10倍当量の1,2-ジアミノ-4,5-ジメトキシ2塩酸塩(DDB)を添加し、NaClによってpHを2.45に調整した。溶液を分画分子量500の透析膜にて透析し、励起波長269nmで蛍光測定した結果、410nmに強い蛍光を示した。この結果より、調整された金粒子表面にアセタール-PEG/PAMAブロック共重合体の末端アセタール基がアルデヒドに変換され、DDBと効率的に反応していることが確認された。診断薬などの用途に有用であることを示している。

実施例3

市販の金コロイド粒子(微粒子)分散体に、前記アセタール-PEG/PAMAブロック共重合体を加えて分散安定金コロイド粒子(微粒子)を調製。

前記ブロック共重合体(5700/15700)を1.4mg(モル比、Au/N=1/10000000)を計量し、蒸留水2mLに溶解させHClでpHを6.5に調整した。そして市販の金コロイド溶液1.0mL(40nm, 2×10^{-8} mol, pH6.5)を攪拌しながら加え、室温で3時間攪拌した。その後、HClを加えてpH3に調整し、各時間静置した後、可視スペクトルの測定を行った。第8図(a)から分かるように、pH3.2において10時間後も凝集のピークは現れず、安定な分散体が形成されている(開始から、1, 2, 4, 6, 8および10時間後の吸収波長に変化がないことから、安定な分散体が形成されていることが理解される。)

20

比較としてPEGホモポリマーを用いた場合を示す第8図(b)では、pH3, 1において、30分、1, 2, 4, 6, 8および10時間後のように、時間の経過と共に吸収波長は長波町側に変位しており、凝集が進んでいることを示している。

前記具体例ではアセタールを末端に有するポリマーの具体例について述べたが、アセタールに代えて他の機能を持つ官能基、例えばアルデヒド、水酸基、アミノ基、カルボキシル基、活性エステル基、アジド基、メルカプト基、ビオチン基、単糖や2糖などのオリゴ糖、アミノ酸、核酸、アリル基、ビニルベンジル基、メタクリロイル基、アクリロイル基などとするにより、該機能基と結合する被検物質を検出できる。

実施例4

CdS量子ドットの調製

蒸留水80mL中に上述のアセタール-PEG/PAMAブロック($4.19 \times 10^{-7} \text{mol}$)、CdCl₂($6 \times 10^{-5} \text{mol}$)及びNa₂S・9H₂O($6 \times 10^{-5} \text{mol}$)を加え、攪拌機(750rpm)で20分間攪拌した。得られた量子ドット(粒径4nm)を励起波長300nmにて蛍光を測定したところ第9図に示すように半導体微粒子特有の強い蛍光が現れている。

実施例5

A, 構造式Bで表されるグラフトポリマーに含まれるポリマーの合成。

片末端にビニルベンジル基、他末端にカルボキシル基を有するポリエチレングリコールマクロモノマーの合成。

2 1

アルゴン下 100 mL フラスコ中にテトラヒドロフラン (THF) 30 mL、4-ビニルベンジルアルコール (VBA) 1 ミリモル、カリウムナフタレン 1 ミリモル、エチレンオキシド (EO) 113.5 ミリモルを加え、2 日間室温下で重合させた。この溶液に無水コハク酸 (succAnh) 5 ミリモルを加えて更に 1 時間反応させた。生成したポリマーをイソプロピルアルコールに沈澱させ、濾別回収後ベンゼン凍結乾燥によって生成した。ポリマーは定量的に得られ、GPC 解析により分子量 5,000、分子量分布 1.06 であった。また、¹N-NMR 解析より片末端にビニルベンジル基、他末端にカルボキシル基が定量的に導入されていることを確認した。主鎖にアミノ基、側鎖に PEG-COOH を有するグラフトポリマーの合成。

アルゴン下 100 mL フラスコ中に重合開始剤アゾビスイソブチロニトリル (AIBN; 0.1 g)、前記 1、で合成した PEG マクロモノマー (2 g)、ベンゼン (13 mL)、メタクリル酸 N, N-ジメチルアミノエチル (AMA; 13 ミリモル) を加え、60℃、2 日間反応させた。得られたポリマーの GPC 及び NMR 解析から分子量 64,000、アミノ基を有し、PEGCOOH 側鎖 3~4 本有するグラフトポリマーが定量的に合成された。

2、で得られたグラフトポリマーによる金微細 (ナノサイズ) 粒子の調製。

100 mL フラスコ中、超純水 4 mL に上記 2、で合成したグラフトポリマー 0.16 g を溶解させ、 4×10^{-3} g/mL のポリマー水溶液を調製した。この溶液 5 mL に所定量の塩化金酸水溶液 (HauCl₄) を加え一昼夜攪拌した。様々な混合比で 520

2 2

nmの金のプラズモン吸収が見られ、金微細（ナノ）粒子生成を確認した〔（第10図）、aは、AuとNとの比（Au/N）が1/8の場合、bは1/16、cは1/32、dは1/64およびeは1/128の場合をそれぞれ表す。〕。

透過電子顕微鏡観察により、得られた金微細（ナノ）粒子は6～8 nm、多分散度1.08～1.10の単分散微細（ナノ）粒子であることが分かった。

得られた微細（ナノ）粒子のゼータ電位測定の結果、表面電位はpH=7.0で-10ミリボルトでカルボン酸が導入されている効果を確認した。

4. 金微細（ナノサイズ）粒子による凝集試験。

アセタール-PEG-SHとHAuCl₄の比1/6：1で混合した水溶液に、HAuCl₄に対して10倍モルのNaBH₄を添加し、還元法により金コロイドを調製した。末端アセタール基をpH2塩酸で処理しアルデヒド基に返還後、p-アミノフェニル-β-D-ラクトピラニシドと反応し、ラクト-PEG-SHで修飾した金コロイド溶液（平均粒径：8.7 nm）を得た。

この金コロイド-リン酸緩衝水溶液（pH7.4、I=0.15）に種々濃度〔第12図、横軸マイクロモル（μmol/L）〕のRCA120レクチン（ガラクトース認識特異性を持つ）を添加後、3時間（■）、8時間（●）、24時間（▲）後の可視光での吸光度（比吸光度=ΔA/A₀）を測定した（マンノース○とは反応せず、ガラクトース反応特異性があることを示している。）。添加レクチン濃度に対して、吸光度変化をプロットすると、任意の時間に

2 3

において過剰量のガラクトース添加により再分散し、可逆的凝集であることも確認された。

産業上の利用可能性

以上述べたように、本発明の製造方法によれば、従来の金微粒子（コロイド粒子、ナノ粒子）の分散体などにはない安定化された特性を持つ金属微粒子（コロイド粒子、ナノ粒子）あるいは半導体量子ドット（量子効果を示す微粒子）などの分散体を得られる、という優れた効果がもたらされる。また、該分散体は、粒度分布が狭く、かつ50 nmよりも粒径の小さなコロイド粒子（微粒子、ナノ粒子）であり、安定性が極めて高く、前記のように表層に官能基を有する（修飾される）と言う点から医療診断用だけでなく様々な分野に応用可能である。

2 4

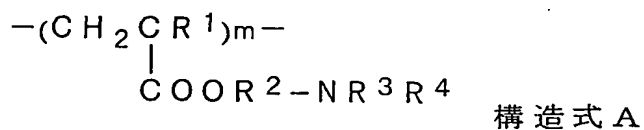
請求の範囲

1. $R-PEG-SX$ [Rは、アセタール、アルデヒド、水酸基、アミノ基、カルボキシル基、活性エステル基、アジド基、ビオチン基、単糖、オリゴ糖、アミノ酸、核酸、アリル基、ビニルベンジル基、メタクリロイル基およびアクリロイル基からなる群から選択される官能基、PEGは $-(CH_2CH_2O)_n-$ (nは2～10, 000の任意の整数)、XはHまたはピリジルチオ基]の水溶液中でハロゲン化金酸、ハロゲン化白金酸、硝酸銀およびハロゲン化ロジウム酸からなる群から選択される少なくとも1種の金属酸またはその塩を還元剤により還元することにより得られた該金属からの微粒子表面に該官能基を有するPEG単位を持つポリマーを担持した安定金属微粒子分散体。

2. $R-PEG-SX$ [Rは、アセタール、アルデヒド、水酸基、アミノ基、カルボキシル基、活性エステル基、アジド基、ビオチン基、単糖、オリゴ糖、アミノ酸、核酸、アリル基、ビニルベンジル基、メタクリロイル基およびアクリロイル基からなる群から選択される官能基、PEGは $-(CH_2CH_2O)_n-$ (nは2～10, 000の任意の整数)、XはHまたはピリジルチオ基]の水溶液中でハロゲン化金酸、ハロゲン化白金酸、硝酸銀及びハロゲン化ロジウム酸からなる群から選択される少なくとも1種の金属酸またはその塩を還元剤により還元することにより得られた該金属からの微粒子表面に該官能基を有するPEG単位を有するポリマーを担持した安定金属微粒子分散体の製造方法。

25

3. R-PEG/PAMA [Rは、アセタール、アルデヒド、水酸基、アミノ基、カルボキシ基、活性エステル基、アジド基、ビオチン基、単糖、オリゴ糖、アミノ酸、核酸、アリル基、ビニルベンジル基、メタクリロイル基およびアクリロイル基からなる群から選択される官能基、PEGは $-(CH_2CH_2O)_n-$ (nは2~10,000の任意の整数)、PAMAは下記構造式Aで表されるアミノ基を有するメタクリル酸ポリマー] で表されるブロックポリマー溶液中でハロゲン化金酸、ハロゲン化白金酸、硝酸銀及びハロゲン化ロジウム酸からなる群から選択される少なくとも1種の金属酸またはその塩を還元することにより得られた該金属からの微粒子表面に該官能基を有する該ブロックポリマーを担持した安定金属微粒子分散体



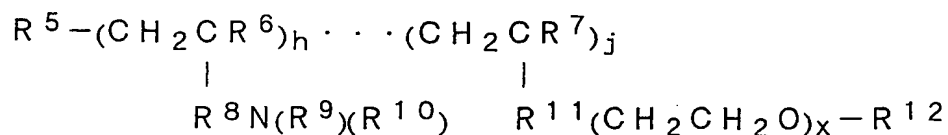
[mは重合度であり2~10000である。R¹はHまたはメチル基、R²は炭素数1~10のアルキレン基、R³およびR⁴は炭素数1~5のアルキル基を示す。]

4. R-PEG/PAMA [Rは、アセタール、アルデヒド、水酸基、アミノ基、カルボキシ基、活性エステル基、アジド基、ビオチン基、単糖、オリゴ糖、アミノ酸、核酸、アリル基、ビニルベンジル基、メタクリロイル基およびアクリロイル基からなる群から選択される官能基、PEGは $-(CH_2CH_2O)_n-$ (nは2~10,000の任意の整数)、PAMAは前記構造式Aで表されるアミノ基を有するメタクリル酸ポリマー] で表されるブロックポリマー溶

26

液中でハロゲン化金酸、ハロゲン化白金酸、硝酸銀及びハロゲン化ロジウム酸からなる群から選択される少なくとも1種の金属酸またはその塩を還元することにより得られた該金属からの微粒子表面に該官能基を有する該ブロックポリマー鎖を担持した安定金属微粒子分散体の製造方法。

5. 下記の構造式B〔式中 R^{12} は、アセタール、アルデヒド、水酸基、アミノ基、カルボキシ基、活性エステルアジド基、ビオチン基、単糖、オリゴ糖、アミノ酸、核酸、アリル基、ビニルベンジル基、メタクリロイル基およびアクリロイル基からなる群から選択される官能基、 R^6 、 R^7 、 R^9 、 R^{10} は水素または炭素数1～5の低級アルキル基、 R^8 および R^{11} は、 $-COO(CH_2)_y-$ (y は1～10の整数)、 $-C_6H_4(CH_2)_z-$ (z は1～10の整数)、 $-CONH(CH_2)_w-$ (w は1～10の整数)からそれぞれ独立に選択される結合基、 R^5 は重合開始剤断片などにより形成される基からなる群から選択される、 X は重合度を表し、2～1000であり、 h は2～50000であり、 j は1～10000である。〕で表されるグラフトポリマー溶液中でハロゲン化金酸、ハロゲン化白金酸、硝酸銀及びハロゲン化ロジウム酸からなる群から選択される少なくとも1種の金属酸またはその塩を還元することにより得られた該金属からの微粒子表面に該官能基を有する該ブロックポリマー鎖を担持した安定金属微粒子分散体。



構造式B

27

6. 前記の構造式 B [式中 R^{12} は、アセタール、アルデヒド、水酸基、アミノ基、カルボキシ基、活性エステル基、アジド基、ビオチン基、単糖、オリゴ糖、アミノ酸、核酸、アリル基、ビニルベンジル基、メタクリロイル基およびアクリロイル基からなる群から選択される官能基、 R^6 、 R^7 、 R^9 、 R^{10} は水素または炭素数 1～5 の低級アルキル基、 R^8 および R^{11} は、 $-COO(CH_2)_y-$ (y は 1～10 の整数)、 $-C_6H_4(CH_2)_z-$ (y は 1～10 の整数)、 $-CONH(CH_2)_w-$ (w は 1～10 の整数) からそれぞれ独立に選択される結合基、 R^5 は??であり、 X は重合度を表し、 $2 \sim 1000$ であり、 h は $2 \sim 50000$ であり、 j は $1 \sim 10000$ である。] で表されるグラフトポリマー溶液中でハロゲン化金属酸、ハロゲン化白金酸、硝酸銀及びハロゲン化ロジウム酸からなる群から選択される少なくとも 1 種の金属酸またはその塩を還元することにより該金属からの微粒子表面に該官能基を有する該グラフトポリマー鎖を担持した安定金属微粒子分散体の製造方法。

7. 請求の範囲 1、3 または 5 に記載のいずれかの発明において、ハロゲン化金属酸またはその塩は塩化金酸、塩化白金酸、塩化ロジウム酸またはその塩からなる群から選択されることを特徴とする安定金属微粒子分散体。

8. 請求の範囲 2、4 または 6 に記載のいずれかの発明において、ハロゲン化金属酸またはその塩は塩化金酸、塩化白金酸、塩化ロジウム酸またはその塩からなる群から選択されることを特徴とする安定金属微粒子分散体の製造方法。

9. 前記 $R-PEG-SX$ 、前記 $R-PEG/PAMA$ で表され

28

るブロックポリマー、または前記構造式Bで表されるグラフトポリマー溶液中で、 MeX_2 (Me はCdまたはZn、 X はハロゲン)で表される少なくとも1種の化合物と Na_2S とを、 Se 、 $Cd(CH_3)_2$ 、およびトリブチルホスフィンとをトリオクチルホスフィンオキシドの存在下で加熱して、または $(CH_3)_3SiAs$ 、 $InCl_3$ およびトリオクチルホスフィンとを加熱下で、反応させることにより得られた MeS 、 $CdSe$ 、または $InAs$ からなる半導体微粒子面に該官能基を有するPEG単位を持つポリマー、該官能基を有する前記ブロックポリマーまたは前記グラフトポリマーを担持させた安定半導体微粒子分散体。

10. 微粒子半導体がCdS、CdSe、ZnS、ZnSeまたはInAsであることを特徴とする請求の範囲9に記載の安定半導体微粒子分散体。

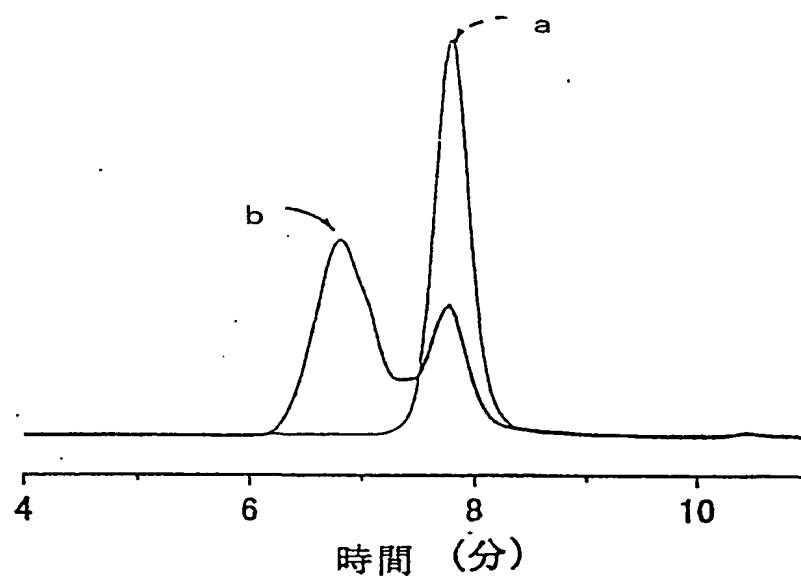
11. 前記R-PEG-SX、前記R-PEG/PAMAで表されるブロックポリマー、または前記構造式Bで表されるグラフトポリマー溶液中で、 MeX_2 (Me はCdまたはZn、 X はハロゲン)で表される少なくとも1種の化合物と Na_2S とを、 Se 、 $Cd(CH_3)_2$ 、およびトリブチルホスフィンとをトリオクチルホスフィンオキシドの存在下で加熱して、または $(CH_3)_3As$ 、 $InCl_3$ およびトリオクチルホスフィンとを加熱下で、反応させることにより、 MeS 、 $CdSe$ 、または $InAs$ からなる半導体微粒子面に該官能基を有するPEG単位を持つ化合物、該官能基を有する前記ブロックポリマーまたは前記構造式Bで表されるグラフトポリマーを担持させた安定半導体微粒子分散体の製造方法。

12. 微粒子半導体がCdS、CdSe、ZnS、ZnSeまた

は InAs であることを特徴とする請求の範囲 11 に記載の安定半導体微粒子分散体の製造方法。

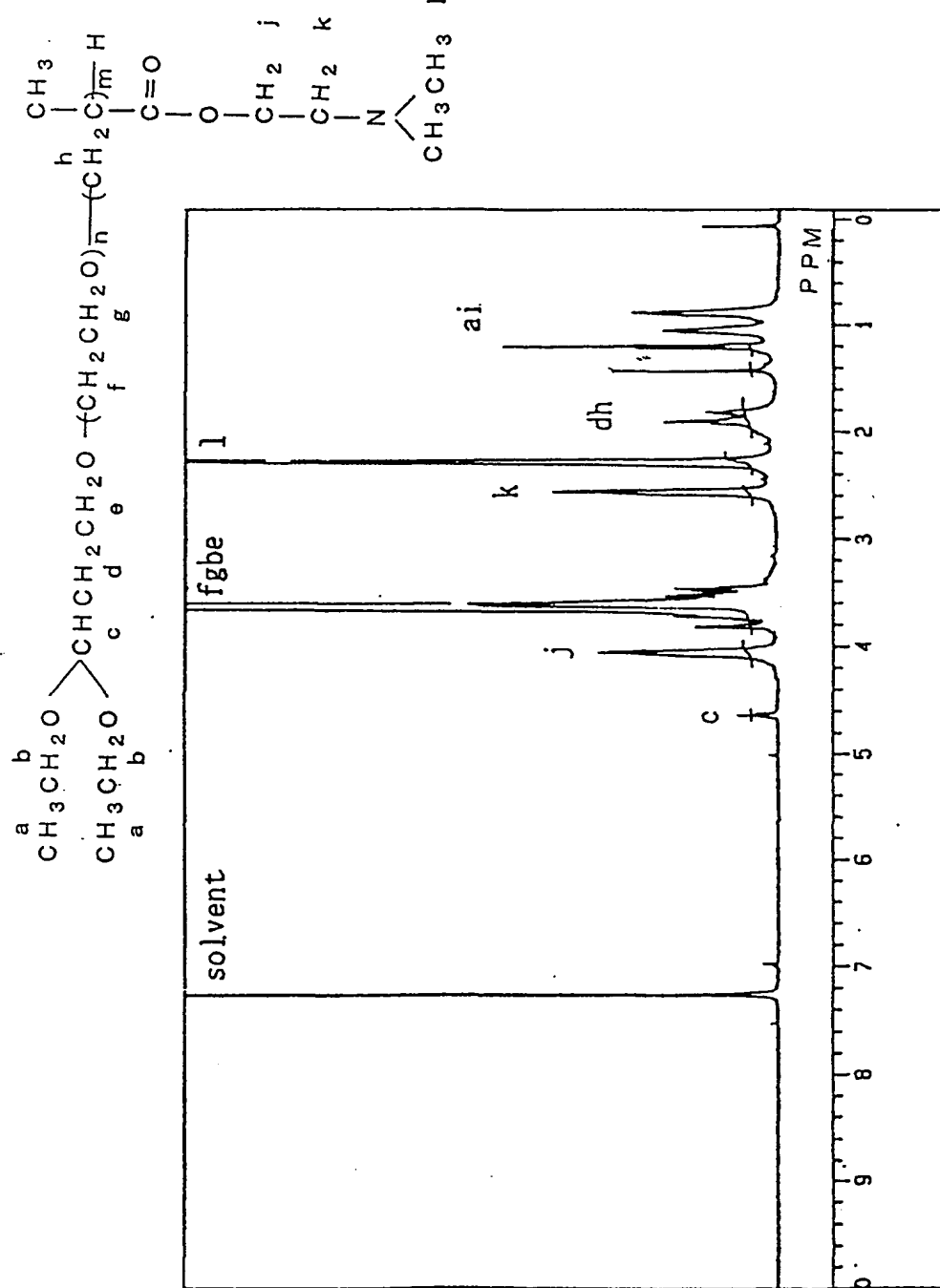
1 / 8

第1図



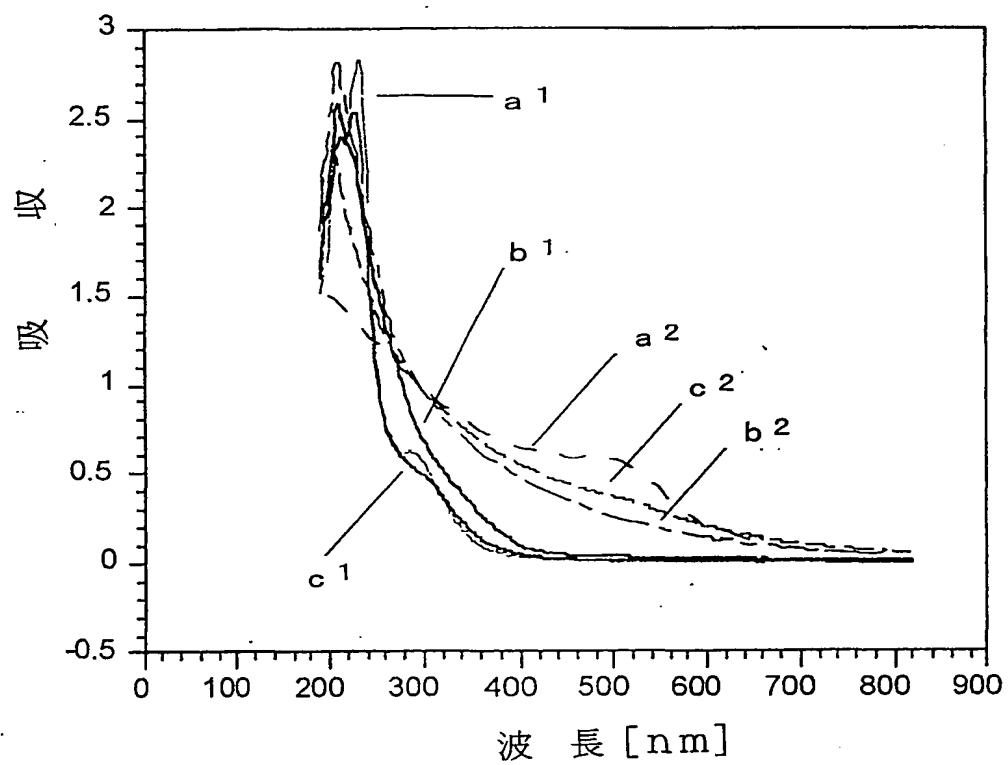
2 / 8

第 2 図

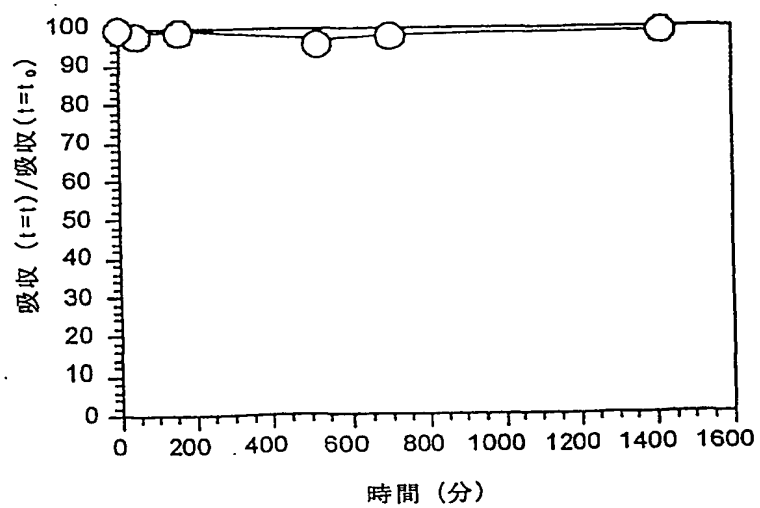


3 / 8

第3図

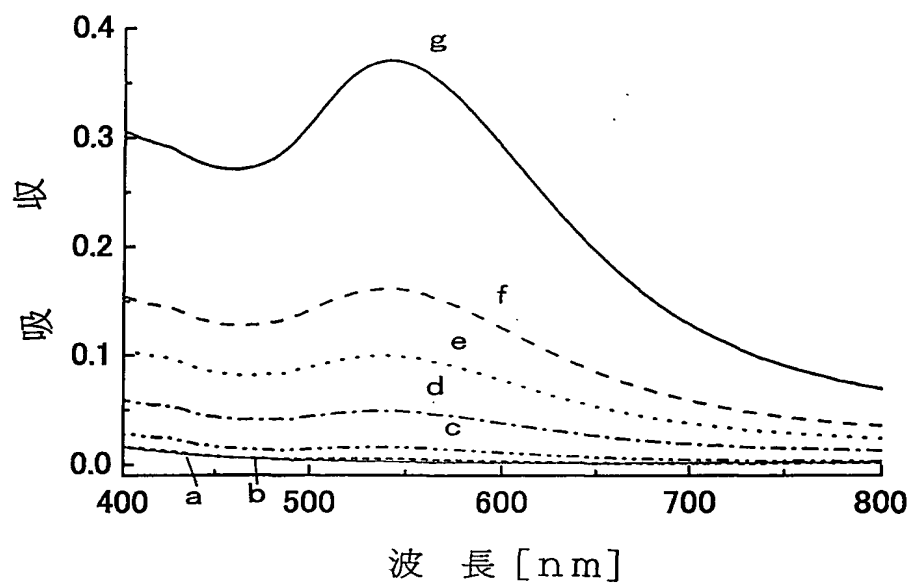


第4図

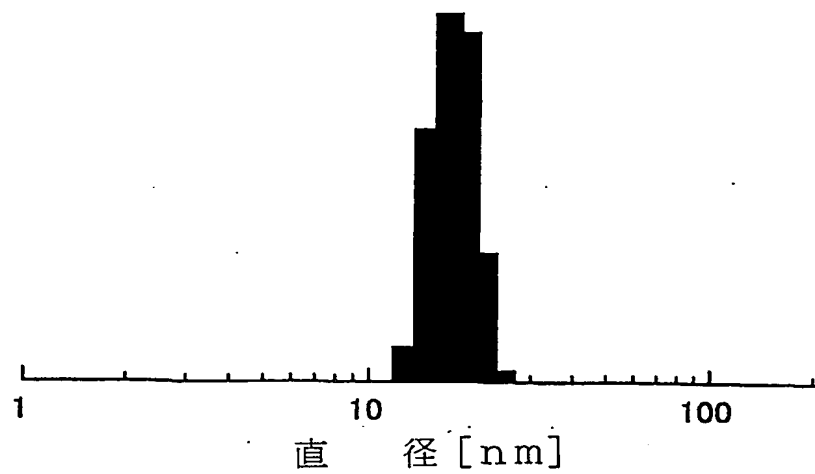


4 / 8

第5図

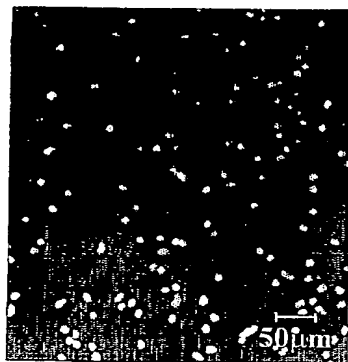


第6図



5 / 8

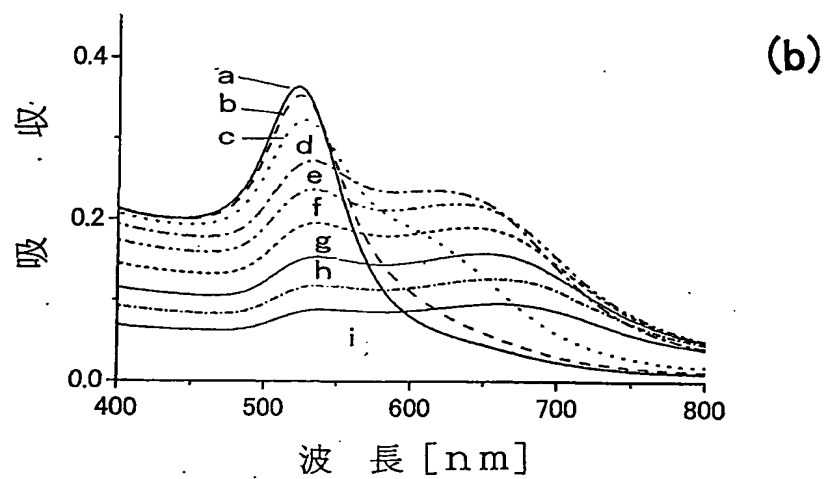
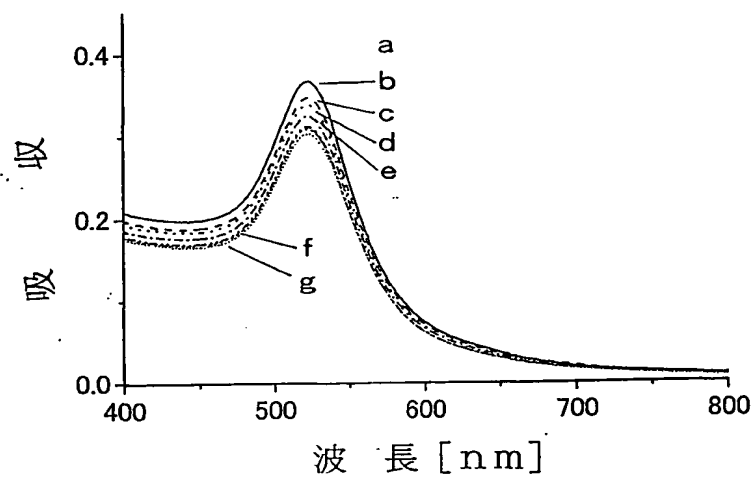
第7図



BEST AVAILABLE COPY

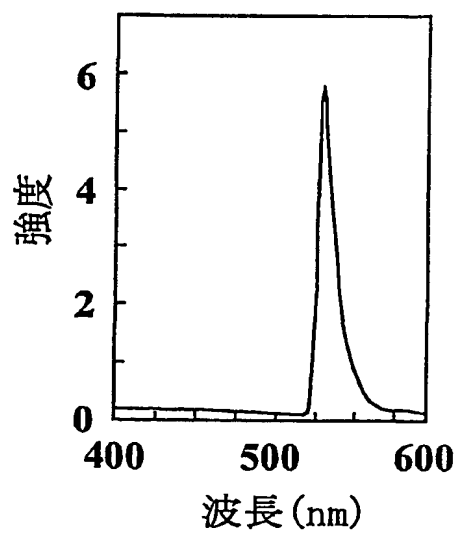
6 / 8

第8図

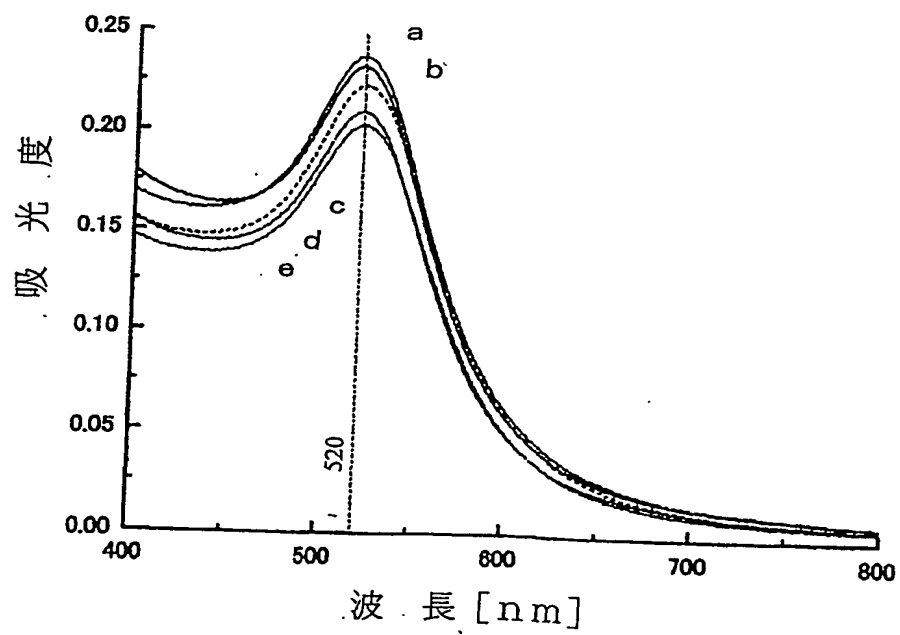


7 / 8

第9図



第10図



8 / 8

第 11 図

